

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ТЕМА: ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ НЕЗАВИСИМОГО И
СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Студентка 301гр. Салова Виктория Владимировна
Преподаватель Антон Александрович Замарин

Цель:

- ознакомление с цитогенетическим методом.
- узнать этапы проведения цитогенетического исследования
- выявить исходный материал
- рассмотреть различные методы окраски
- узнать на что направлен данный метод

1. Основы цитогенетического метода

- ◎ Цитогенетика – важнейший раздел практической медицины. Этот метод применяется для диагностики хромосомных болезней, составления генетических карт хромосом, изучения мутационного процесса.
- ◎ Основой метода является микроскопическое изучение хромосом человека. Этот метод широко используется с начала 20-х годов XX в. для изучения морфологии и подсчета хромосом человека, культивируя лейкоциты для получения метафазных пластинок.

1. Основы цитогенетического метода

Цитогенетический анализ включает три основных этапа:

1. Культивирование клеток.
2. Окраска препарата.
3. Микроскопический анализ препарата

2. Культивирование клеток.

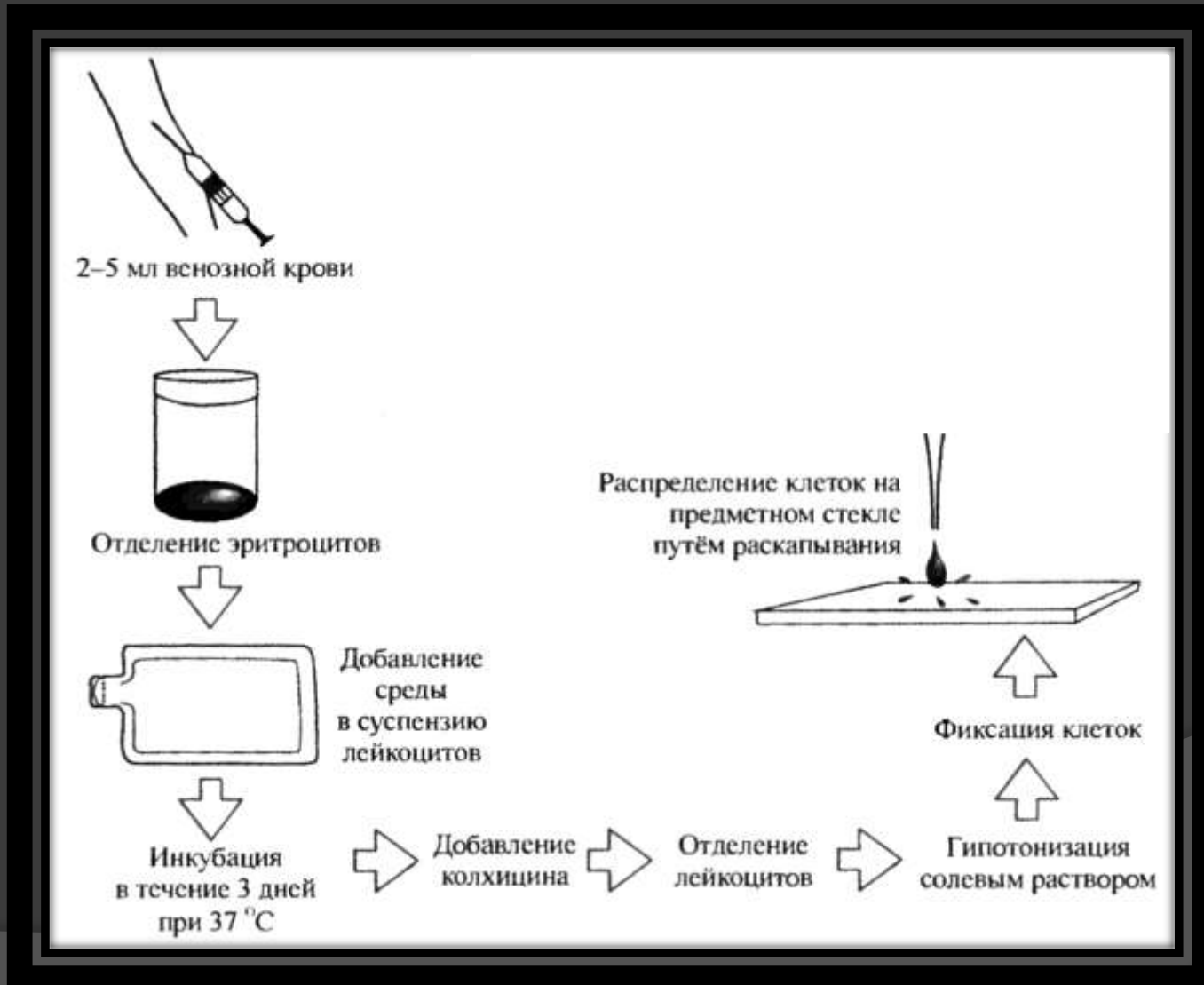
- Материал исследования: культура лимфоцитов периферической крови, кожных фибробластов, клеток костного мозга, а также половых клеток. Для анализа кариотипа плода могут быть использованы клетки ворсин хориона (9–11 неделя внутриутробного развития), в более позднем сроке цитогенетическому исследованию подвергают клетки плода, выделенные из амниотической жидкости, пуповинной крови и плаценты.

2. Культивирование клеток.

На этом этапе выполняются следующие действия:

- культивирование клеток человека (чаще лимфоцитов) на искусственных питательных средах;
- стимуляция митозов фитогемагглютинином (ФГА);
- добавление алкалоида колхицина (разрушает нити веретена деления) для остановки митоза на стадии метафазы;
- обработка клеток гипотоническим раствором KCl, вследствие чего хромосомы "рассыпаются" и лежат свободно;

2. Культивирование клеток.



2. Культивирование клеток.

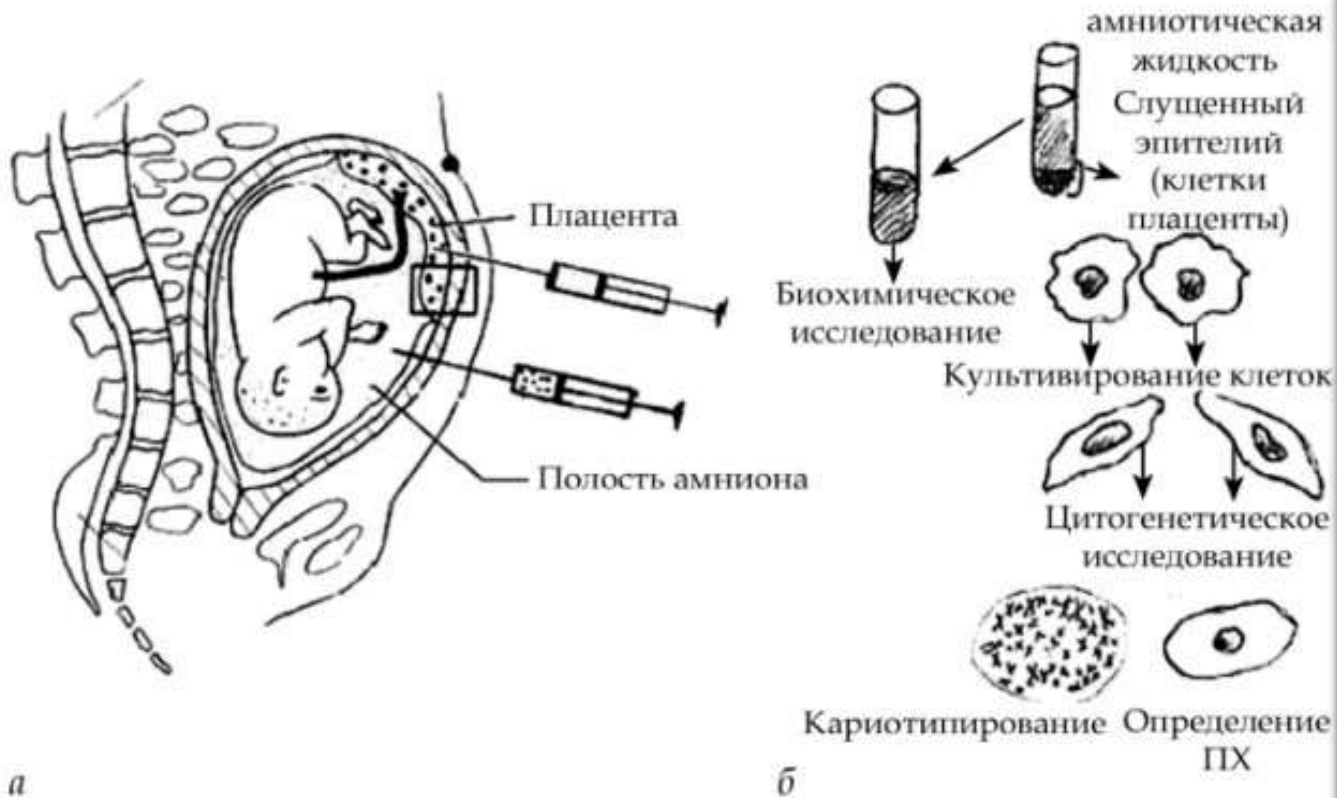
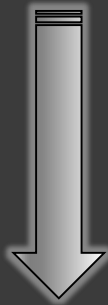


Рис. 57. Амниоцентез и биопсия плаценты: *а* — получение амниотической жидкости с клетками эмбриона (плода) или клеток плаценты; *б* — исследование материала биохимическими и цитогенетическими методами

3. Окраска препаратов.



Рутинный метод

Применяют для определения количества хромосом (количественных аномалий кариотипа) в препарате, а также специфического сайта ломкости при синдроме fragile X-хромосомы.

Краситель Гимзы



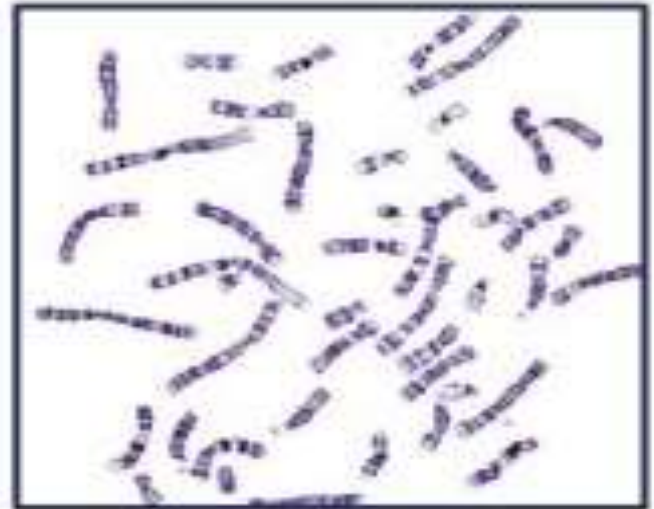
Методики дифференциальной окраски

Хромосомы приобретают поперечную исчерченность, обусловленную неодинаковой окраской участков по длине хромосомы. Позволяет выявлять структурные перестройки хромосом.

3. Окраска препаратов.

Методики дифференциальной окраски

- G-метод, окраска для световой микроскопии. Используют краситель Гимзы, однако хромосомы предварительно обрабатывают раствором трипсина.



G-метод

3. Окраска препаратов.

Методики дифференциальной окраски

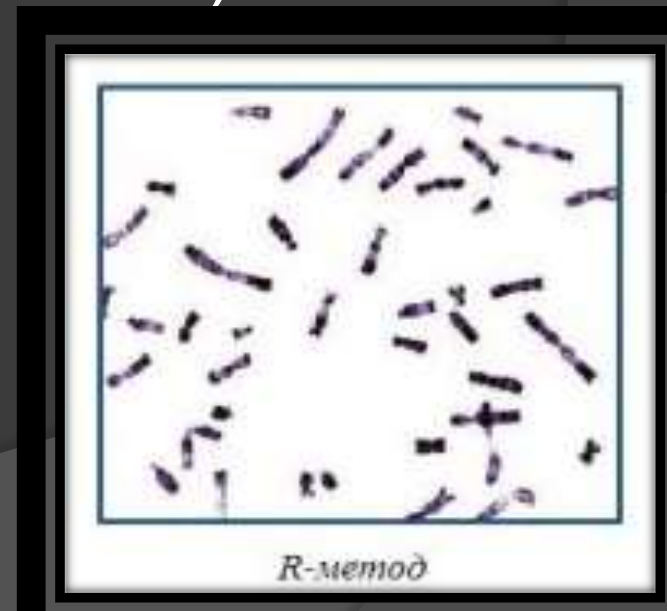
- Q-метод, окраска флуорохромами, тип расположения сегментов соответствует G-методу



3. Окраска препаратов.

Методики дифференциальной окраски

- R-метод, реверсионная окраска, сегменты расположены противоположно G методу (темноокрашенными являются эухроматиновые участки хромосом, а светлыми – гетерохроматиновые)



3. Окраска препаратов.

Методики дифференциальной окраски

- С-метод, окрашивается только конститутивный гетерохроматин



С-метод

3. Окраска препаратов.

Методики дифференциальной окраски

- **NOR- или Ag-окраска**– применяется для выявления ядрышкообразующих районов, расположенных в коротких плечах всех 5 пар акроцентрических хромосом человека, с помощью окрашивания солями серебра.

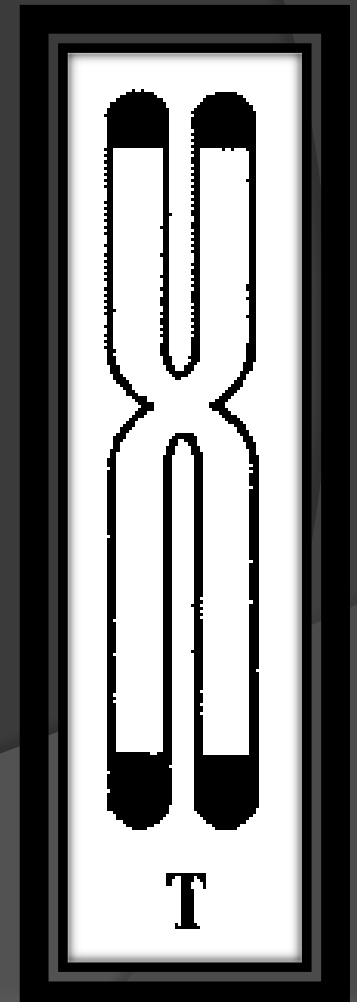


NOR- или Ag-окраска

3. Окраска препаратов.

Методики дифференциальной окраски

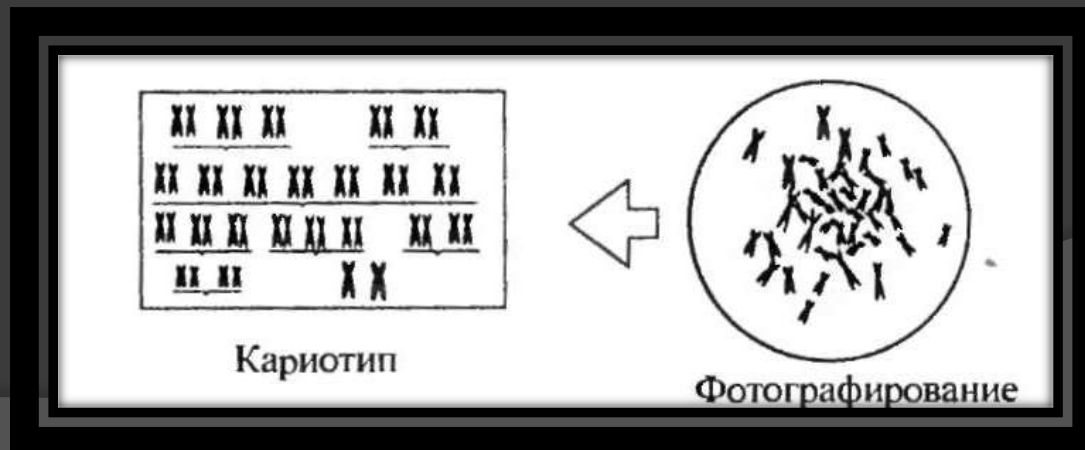
- Т-метод, окрашиваются теломерные области



4. Микроскопирование препаратов метафазных хромосом.

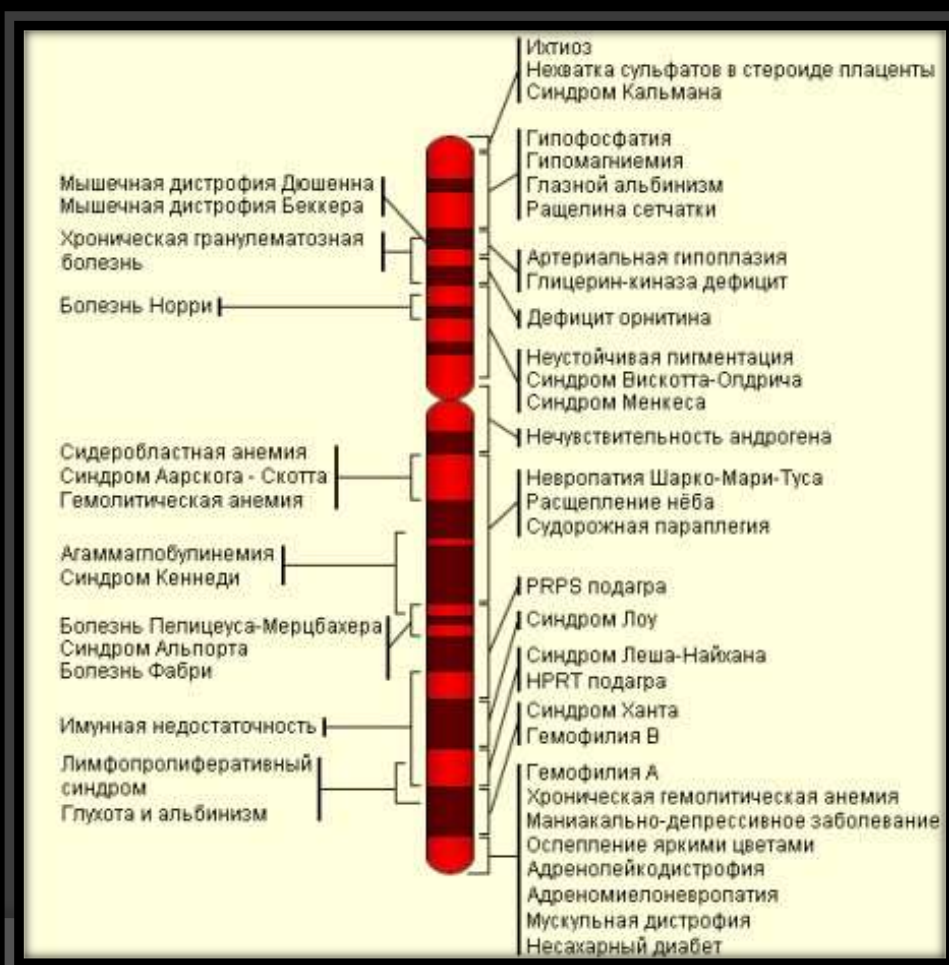
На этом этапе выполняются следующие действия:

- изучение хромосом под микроскопом и фотографирование;
- вырезание отдельных хромосом и построение идиограмм.



4. Микроскопирование препаратов метафазных хромосом.

● Генетическая карта X-хромосомы

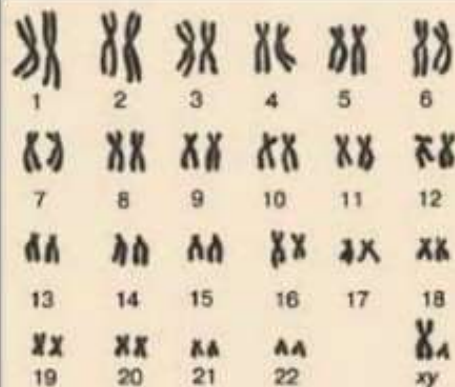


4. Микроскопирование препаратов метафазных хромосом.

- ◎ Кариотипирование – цитогенетический метод, позволяющий выявить отклонения в структуре и числе хромосом, которые могут стать причиной бесплодия, другой наследственной болезни и рождения больного ребенка.

4. Микроскопирование препаратов метафазных хромосом.

Аномалии, причины которых выявлены с помощью цитогенетического метода:



Синдром Дауна



Лейкоз



Заключение

- Ознакомились с цитогенетическим методом.
- Таким образом, выявили, что исходным материалом являются клетки человека, получаемые из разных тканей, — лимфоциты периферической крови, клетки костного мозга, фибробласты, клетки опухолей и эмбриональных тканей и др. Основными этапами являются: культивирование клеток, окраска препарата и микроскопический анализ. А также то, что помощью цитогенетического исследования можно провести анализ кариотипа в норме и патологии, изучить закономерности мутационного и эволюционного процессов.